

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

ANNÉE 1922

THÈSE

331
N°

POUR

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(MENTION MÉDECINE)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

PHÉNOMÈNE

DU BACTÉRIOPHAGE

PAR

LÉONIDAS LEVINSON

Né à Moscou, le 15 Juillet 1887
Ancien Externe des Hôpitaux

Président : F. BESANÇON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1922

188

THÈSE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

ANNÉE 1922

THÈSE

POUR

N°
331

LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(MENTION MÉDECINE)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DU

PHÉNOMÈNE

DU BACTÉRIOPHAGE

PAR

LÉONIDAS LEVINSON

Né à Moscou, le 13 Juillet 1887
Ancien Externe des Hôpitaux



Président : F. BESANÇON, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1922

Faculté de Médecine de Paris

DOYEN.....

M. ROGER

PROFESSEURS.....

MM.

Anatomie.....
Anatomie médico-chirurgicale.....
Physiologie.....
Physique médicale.....
Chimie organique et chimie générale.....
Bactériologie.....
Parasitologie et Histoire naturelle médicale.....
Pathologie et Thérapeutique générale.....
Pathologie médicale.....
Pathologie chirurgicale.....
Anatomie pathologique.....
Histologie.....
Pharmacologie et matière médicale.....
Thérapeutique.....
Hygiène.....
Médecine légale.....
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....
Pathologie expérimentale et comparée.....

NICOLAS
CUNEO
CH. RICHET
André BROCA.
DESGREZ
BEZANÇON
BRUMPT
MARCEL LABBE
RENON
LECENE
LETULLE
PRENANT
POUCHET
CARNOT
LÉON BERNARD
BALHAZARD
MENETRIER
ROGER

Clinique médicale.....

ACHARD
WIDAL
GILBERT
CHAUFFARD
MARFAN
NOBECOURT

Hygiène et clinique de la 1^{re} enfance.....
Clinique des maladies des enfants.....
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.....
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....
Clinique des maladies du système nerveux.....
Clinique des maladies contagieuses.....

CLANDE
JEANSELME
PIERRE MARIE
TEISSIER

Clinique chirurgicale.....

DELBET
LEJARS
HARTMANN
GOSSET

Clinique ophtalmologique.....

Clinique des maladies des voies urinaires.....

DE LAPERSONNE
LEGUEU
BAR

Clinique d'accouchement.....

COUVELAIRE

Clinique gynécologique.....

BRINDEAU

Clinique chirurgicale infantile.....

J. L. FAURE

Clinique thérapeutique.....

AUGUSTE BROCA

Clinique oto-rhino-laryngologique.....

VAQUEZ

Clinique thérapeutique chirurgicale.....

SEBILEAU

Clinique propédeutique.....

DIVAL
SERGENT

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.

ABRAMI
ALGLAVE
BASSET
BAUDOIN
BLANCHETIERE
BRANCA
CHAMPY
CHEVASSU
CHIRAY
CLERC
DEBRE
DESMAREST

DUVOIR
FIESSINGER
GARNIER
GOUGEROT
GREGOIRE
GUENIOT
GUILLAIN
HEITZ-BOYER
JOYEUX
LABBE (HENRI)
LAIGNEL-LAVASTINE
LANGLOIS

LARDENNOIS
LE LORIER
LEMIERRE
LEQUEUX
LEREBoullet
LERI
LEVY-SOLAL
MATHIEU
METZGER
MOCQUOT
MULON
OKINCZYC
PHILIBERT

RATHERY
RETTERER
RIBIERRE
RICHAUD
ROUSSY
ROUVIERE
SCHWARTZ (A)
TANON
TERRIEN
TIFFENEAU
VILLARET

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les options émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MES CHERS AMIS

RACHEL ET JOSEPH BLUMENFELD

A MES MAÎTRES DANS LES HÔPITAUX

BÉNÉVOLES :

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ M. GARNIER
HÔPITAL DE LA CHARITÉ

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ T. TUFFIER
HÔPITAL BEAUJON

STAGES :

M. LE PROFESSEUR TEISSIER
HÔPITAL CLAUDE BERNARD

M. LE PROFESSEUR S. TIERRY
HÔPITAL DE LA Pitié

EXTERNAT 1911-1914 :

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ THIERRY
HÔPITAL DE LA Pitié

M. LE PROFESSEUR AGRÉGÉ G. MARION
HÔPITAL LARIBOSIÈRE

M. LE DOCTEUR ROBINEAU
HÔPITAL TENON

M. LE PROFESSEUR F. LEJARS
HÔPITAL SAINT-ANTOINE

M. LE PROFESSEUR FERNAND BEZANÇON

M. LE PROFESSEUR FERNAND BESANÇON

PROFESSEUR DE BACTÉRIOLOGIE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE

MEMBRE DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

MÉDECIN DE L'HOPITAL BOUCICAUT

Qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Je tiens à remercier ici mon cher maître et ami M. le Professeur agrégé André Philibert, à l'instigation de qui ce modeste travail a été entrepris.

Déjà, durant les jours troublés de la mobilisation, au II^e régiment de marche du II^e régiment étranger, où j'ai eu le bonheur de le rencontrer comme médecin-chef et de travailler sous ses ordres, j'avais pu me féliciter de son appui moral et de la grande bonté qui rayonnait autour de lui. Dès après l'armistice je retrouvai entière la bienveillance à laquelle il avait accoutumé tous ceux qui l'approchaient. Il a bien voulu m'ouvrir l'accès de son laboratoire, attirer mon attention sur un sujet qui semble devoir présenter un intérêt grandissant, mettre à ma disposition, avec son haut savoir, des documents utiles et nombreux, — que des circonstances indépendantes de ma volonté ne m'ont pas permis d'utiliser suffisamment, — et m'indiquer des conclusions dont j'ai pu faire le meilleur usage.

A mon cher ami M. le D^r A. Fouquier j'envoie mes remerciements les plus chaleureux pour m'avoir facilité la rédaction de cette thèse.

Exposé du Phénomène d'Hérelle

Hankin avait constaté, en 1896, que l'eau de certains fleuves de l'Inde avait la curieuse propriété de détruire certaines bactéries et cet auteur avait attribué ce fait à un élément filtrant, de nature volatile. En 1915, Twort entrevit des faits de bactériolyse semblables sur des cultures bactériennes sur gélose. Parmi beaucoup d'hypothèses, il émit celle d'un virus filtrant qui venait contaminer ces cultures, mais il ne tira aucune conclusion de ces observations qu'il ne poursuivit pas.

D'Hérelle présenta à l'Académie des sciences, le 10 septembre 1917, une note sur un microbe invisible, antagoniste de bacilles dysentériques. Voici l'expérience fondamentale qui lui a servi de point de départ pour ces recherches ultérieures :

« Les déjections d'un individu convalescent de dysenterie sont émulsionnées dans du bouillon et filtrées sur bougie (Chamberland 2). Une culture en bouillon bien trouble, de bacilles dysentériques, est additionnée d'une dizaine de gouttes de filtrat et placée à l'étuve à 37° ; après une douzaine d'heures, le milieu est devenu parfaitement limpide, tous les bacilles contenus dans la souche se sont dissous ; une goutte de cette culture introduite dans une nouvelle culture bien développée de bacilles dysentériques, provoque la dissolu-

On de cette seconde culture. Une trace de cette seconde culture une fois dissoute, introduite dans une troisième la dissout à son tour, et on peut indéfiniment continuer à dissoudre, à lyser en série de nouvelles cultures de bacilles dysentériques en introduisant dans chaque tube de la série une trace de la culture lysée du tube précédent ».

Le même phénomène de lyse a pu aussi être mis en évidence par d'Hérelle de la façon suivante : Laissant tomber une goutte d'un filtrat ou d'un lysat sur une culture bactérienne sur gélose il voit, partout où la goutte a été en contact avec la culture, celle-ci disparaître, laissant réapparaître libre la surface de la gélose. De même, si, ajoutant le filtrat dans un tube de culture vierge et pratiquant secondairement un ensemencement, aucun développement ne se produit, les bactéries qui normalement auraient dû se développer ayant donc été inhibées par la présence du filtrat. En résumé, le phénomène d'Hérelle consiste donc essentiellement en la présence dans les selles des convalescents dysentériques d'un principe détruisant à 37° à dose infinitésimale une culture de bacilles dysentériques et se transmettant indéfiniment de cette culture lysée à une nouvelle culture (935 passages). Aucun affaiblissement dans l'action dissolvante n'est observé au cours de passages successifs ; au contraire, après une douzaine de passages, la bactériolyse est totale et complète en l'espace de 3-4 heures et il ne suffit plus que d'une dose d'un milliardième de cc³ de cette culture lysée pour provoquer la lyse dans les tubes suivants.

Ces phénomènes, d'Hérelle les attribue à l'action d'un micro-organisme qu'il a proposé d'appeler « bactériophage ». Ces faits, constatés primitivement pour la dysenterie, d'Hérelle a pu les étendre à d'autres infections. Il a retrouvé le bactériophage dans les selles filtrées de l'homme ou de l'animal atteints : de fièvre typhoïde, hog-choléra, typhus des souris, typhose aviaire, barbone du buffle, peste chez le rat. Différents auteurs confirmèrent cette découverte : Anna Kutner, dans la fièvre typhoïde, Debré et Haghenau, dans différentes infections microbiennes. J. Dumas obtient des filtrats de terre et d'eau de Seine possédant un pouvoir lytique actif. Bordet et Ciura, faisant des inoculations répétées de colibacilles dans le péritoine du cobaye, trouvent que l'exsudat péritonéal, après filtration et chauffage à 60-65°, possède un pouvoir lysogène très marqué pour la race de colis employés à l'inoculation.

Le bactériophage n'a pas été recherché seulement dans les selles d'individus convalescents d'infections intestinales; on l'a recherché et trouvé également dans les selles d'individus sains (d'Hérelle). Fait important, à signaler : on peut isoler des selles d'un individu atteint de troubles intestinaux, si faibles soient-ils, dès le moment où ces troubles s'amendent, un bactériophage actif contre l'une ou l'autre bactérie intestinale. La présence de ce bactériophage indique donc un début d'infection qui cliniquement pourrait passer inaperçue.

Dans les cas graves, le bactériophage manque toujours. Il n'existe que dans des selles des convalescents

ou des sujets guéris ou bien dans les selles d'individus sains, ayant résisté en milieu épidémique.

Le trouve-t-on ailleurs que dans les selles ? — Oui, et certains auteurs l'ont trouvé dans l'eau (J. Dumas), comme nous l'avons dit, dans l'exsudat péritonéal (Bordet et Ciuca), dans le sérum d'un animal inoculé avec une culture lysée par le bactériophage, dans la bile enfin de ce même animal.

Nature du Principe Bactériophage

Pour d'Hérelle, le principe bactériophage est un virus animé. Voici sur quelles expériences est fondée cette opinion :

1. Quand on suit de nombreux passages de cultures en cultures, l'action lytique ne se détruit pas. Elle persiste aussi active et on ne peut admettre cette puissance lytique que si elle est produite par un ferment se multipliant. Or, un tel ferment ne peut être qu'un micro-organisme.

2. D'ailleurs d'Hérelle a pu démontrer l'existence de cette multiplication par l'expérience suivante : Il commence sur un tube de gélose, de demi-heure en demi-heure, une goutte de bacilles dysentériques; sur cette gélose, il ajoute un milliardième de cc³ d'une culture préalablement détruite par le bactériophage. Dans les 4 premiers tubes, il observe des cultures normales de bacilles dysentériques, dans le tubeensemencé au bout de 2 h. $\frac{1}{2}$ il observe dans la colonie une petite plage de gélose nue ayant 25 mm. de diamètre.

Un de ces tubes de géloseensemencés au bout de 3 h. $\frac{1}{2}$ montre plusieurs centaines de plages de gélose stérile. Donc, il en déduit que le micro-organisme bactériophage s'est multiplié et sur cette expérience même, d'Hérelle

a basé un procédé de numération des bactériophages en fonction de la surface de ces plages de gélose stérile.

Evidemment, l'examen microscopique après coloration ne montre d'autres microbes que quelques bâtonnets dysentériques et quelques microcoques ; mais à l'examen ultra-microscopique d'une culture additionnée de lysat on observe la présence de petites micelles réfringentes, situées à l'intérieur des bâtonnets dysentériques. En 25 minutes on assiste dans le champ ultra-microscopique à l'éclatement des bâtonnets dysentériques et à la mise en liberté de ces corpuscules réfringents. Ces preuves d'existence d'un virus animé étant données, d'Hérelle émet l'hypothèse que ce micro-organisme existe à l'état saprophytique, normalement dans l'intestin des individus sains. Surviennent une infection intestinale, cet organisme acquiert une virulence marquée vis-à-vis des microbes intestinaux (comme le coli, Eberth, le dysentérique, etc...). Cette virulence, il serait incapable de l'acquérir au cours d'une infection grave.

Dans les formes bénignes, au contraire, il se multiplierait d'une façon intensive pour lutter contre les microbes ayant donné lieu à l'infection et hâterait la guérison des malades. Au cours d'une épidémie même on pourrait le transmettre aux individus sains, et enrayer ainsi l'épidémie.

Hypothèse de Bordet et Ciuca

Sans nier l'exactitude des faits signalés par d'Hérelle, Bordet et Ciuca prétendent que l'hypothèse d'un virus vivant bactériophage n'est pas conforme à la réalité. Pour ces auteurs : les selles dysentériques sont riches en leucocytes ; d'autre part le pouvoir lysogène des matières fécales ne s'observe qu'à la convalescence. Partant de ces constatations, ils se sont demandés, si le phénomène de d'H. ne résulterait pas plutôt de la défense de l'organisme et notamment d'une propriété spéciale des exsudats leucocytaires qui auraient pour effet de provoquer dans le microbe une viciation héréditaire, consistant dans la production par celui-ci d'un ferment lytique capable d'influencer les microbes normaux de même espèce. Et de fait, c'est par l'expérience suivante que les auteurs ont vérifié cette hypothèse :

Si un ou deux jours après la dernière injection on extrait par ponction l'exsudat péritonéal très net en leucocytes d'un cobaye qui a reçu 3 ou 4 injections intrapéritonéale de *B. coli*, on constate que cet exsudat, ajouté au microbe normal de même espèce, le modifie en lui conférant un pouvoir lytique très prononcé transmissible de culture en culture. Le principe actif est auto-re-

nouvelable, résiste au chauffage de 60° à 65° (suivant le microbe), de sorte qu'une culture lysée, puis stérilisée est encore propre à provoquer le pouvoir lysogène dans une culture normale, qui, à son tour, peut le transmettre. La perpétuation de ce pouvoir lytique est régulière et indéfinie, et ainsi on obtiendrait bien le phénomène que d'Herelle a observé en prenant comme principe actif, originel, un filtrat de matières fécales dysentériques.

Par conséquent, on voit nettement que le concours du tube digestif ou de ses germes n'est pas nécessaire, puisque le déclanchement du pouvoir lysogène peut s'effectuer dans un exsudat péritonéal riche en leucocytes.

Lorsqu'une culture subit la lyse — comme il vient d'être dit — la stérilisation n'est cependant pas totale : Il reste encore des microbes vivants qui ne se développent que très lentement, et qui, lorsqu'on les repique en bouillon, ne le troublent que légèrement tout en lui conférant le pouvoir lytique. Mais on peut les habituer à se développer sur gélose où ils donnent après quelques repiquages une culture luxuriante qui diffère beaucoup de celle de coli primitive et normale.

Chose remarquable, quel que soit le nombre de repiquages, cette culture « glaireuse » garde définitivement, lorsqu'on en transporte la moindre trace dans un tube de bouillon, la propriété de communiquer à celle-ci le pouvoir lytique pour les microbes normaux que l'on y introduit. Ceux-ci sont tués pour le plus grand nombre, mais quelques-uns résistent et peuvent ainsi, reportés sur gélose, être le point de départ d'une nouvelle série

de culture modifiée, qui, en se reproduisant, régénèrent indéfiniment la qualité lytique. On voit donc qu'il n'est nullement nécessaire d'invoquer l'existence d'un micro-organisme spécial, comme le dit d'Hérelle.

Mais une critique est apportée à cette interprétation, et Philibert la résume en quelques lignes en disant « qu'indépendamment de son caractère métaphysique », pour expliquer l'hérédité de caractères acquis par le microbe.

D'Hérelle pourrait la reprendre pour son propre compte, car elle complète l'histoire du bactériophage. « Ce qui se passe dans le tube de culture de Bordet et Ciuca, nous montre, que comme dans une épidémie humaine, il y a : 1. des individus sensibles qui succombent en grand nombre ; 2. il y a des porteurs de germes (races lysogènes, tantôt sensibles, tantôt résistants), puis 3. individus résistants (races glaireuses), et ensuite 4. individus guéris ». Et ces faits ne vont pas à l'encontre des idées de d'Hérelle sur les bactériophages.

Hypothèse d'Oscar Bail

Selon cet auteur le phénomène de d'Hérelle doit être compris de la façon suivante. Sous des influences indéterminées, peut-être même sous celles des leucocytes, les bactéries se fragmenteraient en tous petits éclats, et sous cette forme traverseraient les parois des bougies poreuses ; mais, en outre, les fragments ainsi formés continueraient à vivre et même garderaient la propriété de se multiplier à la condition que le milieu nutritif sur lequel ils se développent, soit enrichi par de nouvelles bactéries et surtout des bactéries appartenant au même groupe. Ces bactéries nouvelles, attaquées par les éclats de bactériophage, se diviseraient elles-mêmes à leur tour en fragments qui ne feraient ainsi qu'augmenter la masse bactériophage.

Mais une question se pose : c'est celle de cultures résistantes, et l'auteur indique que ces cultures pourraient provenir du retour de certains éclats à la forme bactérienne, et ce n'est qu'après plusieurs passages en culture que ces bactéries recouvreraient leurs propriétés primitives.

Ainsi, nous voyons que l'hypothèse d'Os. Bail tend à concilier l'opinion de d'Hérelle avec celle de Bordet et Ciuca.

Hypothèse de Kabeschima

Kabeschima, à l'encontre de d'Hérelle, considère le principe bactériophage comme un ferment non animé. Il attribue le phénomène de destruction des bactéries à l'action d'une diastase. Il base son opinion sur les faits suivants : « La chaleur ne détruit le principe du bactériophage qu'à 75°, ce qui est bien en faveur de sa nature diastasique, ensuite il reste actif pendant 4 ans, il résiste à l'action du chloroforme et du fluorure de sodium. En plus, il est précipité par l'acétone et la poudre desséchée garde son pouvoir lytique. Il serait précipité par l'éther, mais resterait actif. Telles sont les raisons qui plaident pour Kabeschima en faveur de sa conception d'un ferment inanimé.

Mais ces faits sont réduits à néant par d'Hérelle qui répond qu'il existe des microbes se conservant même au-delà de quatre ans, qu'il y a des espèces résistant à la chaleur à 70°, qu'ensuite le fait de ne pas être influencé par le chloroforme et le fluorure de sodium n'implique pas nécessairement l'idée d'un ferment non animé et enfin, puisque le précipité acétonique, d'après Kabeschima lui-même, reste actif par passage successif, il est difficile d'admettre pour un ferment une activité indéfinie, si on

n'admet pas une rénovation (multiplication) vitale. D'ailleurs, d'Hérelle accepte l'hypothèse que le bactériophage agit en sécrétant un ferment soluble.

Caractère du principe Bactériophage

Un des premiers caractères du bactériophage, c'est qu'il agit après filtration sur les bougies de porcelaine (Chamb, L² et Berkfeld). Il doit bien être classé par conséquent dans le groupe des virus filtrants. On peut constater que diverses souches de bactériophage actives vis-à-vis de certaines bactéries s'atténuent plus ou moins vite au-dessus de 60°, mais ils ne sont définitivement tués qu'un peu au-dessus de 75° (d'Hérelle et Pozerwski). Il n'agit que sur le microbe vivant. Il résiste à l'action de l'acétone, au fluorure de sodium, du CH-Cl_3 , à l'acide phénique (Kabeschima, Eliava et Pozerwski), mais il est détruit par les sels de quinine (en particulier par le bichlorhydrate (Eliava et Pozerwski).

Il a une action élective sur le microbe qui a provoqué l'infection. Il s'agit plutôt d'électivité que de spécificité proprement dite (d'Hérelle), bien que dans l'expérience de Bordet et Ciuca nous ayons vu que la propriété est rigoureusement spécifique pour la seule race de coli qui a créé l'infection), car un principe bactériophage spécifique, d'une race microbienne, peut être adapté à une autre race et même à une autre espèce microbienne. Les espèces microbiennes ne sont pas toutes également sen-

sibles : c'est le B. dysentérique qui paraît le plus facile à s'adapter au bactériophage étranger. Il est plus difficile d'adapter un B d'Eberth au B. dysentérique.

D'une façon générale il est à remarquer (Philibert), que la plupart des microbes sensibles appartiennent au groupe coli-éberth-para (Salmonelloses), cependant quelques autres microbes appartenant à d'autres groupes sont également sensibles, en particulier le staphylocoque.

Une notion importante à retenir, selon Philibert, c'est que les races les plus lysables sont justement les races immobiles (B. de la dysent., B de la typhose aviaire). Le coli-bacille lysable dans l'expérience de Bordet et Ciuca est aussi une race immobile.

De même que nous l'avons vu dans l'expérience de Bordet et Ciuca, le repiquage d'une goutte de culture lysée, parfaitement claire à l'œil nu, donne naissance à quelques colonies de la bactérie expérimentée. Tous les auteurs confirment ce fait (d'Hérelle, Debré et Hagenau, Bordet et Ciuca). C'est qu'il existe donc des individus microbiens résistants. Les colonies fournies par ces individus sont modifiées et présentent tantôt les caractères des colonies normales lysables, mais non lysogènes, tantôt des colonies irrégulières, déchiquetées, lysogènes, et plus ou moins lysables, tantôt des colonies épaisses, glaireuses, muqueuses, ni lysables, ni lysogènes, colonies analogues à celles que Goldmeister a décrites sous le nom de « Flatterformen », qui, très adhérentes au milieu, présentent un éclat métallique. Ces colonies résistantes, examinées au microscope, sont constituées par des bâ-

tonnets altérés (Schiga) ou présentant un aspect cocci-forme, réunies par deux (d'Hérelle).

Comment prennent naissance ces colonies résistantes?

La question reste en suspens de savoir si cette résistance constitue un caractère acquis, sous l'influence du principe lytique lui-même ou bien si celui-ci n'a pas simplement sélectionné des individus, qui, par leur caractère distinctif, étaient déjà prédisposés à la résistance. Deux théories sont en présence, soutenues par Gratia, d'une part, et Eliava Pozerwski d'autre part.

Gratia, qui voit dans la formation de ces races résistantes un phénomène de sélection naturelle, s'appuie, pour démontrer cette hypothèse, sur le fait qu'il a isolé de la souche de coli, utilisés par Bordet et Ciuca, dans leur expérience, et ceci avant tout essai de lyse, trois races de coli différentes, par leur caractère : a) une race sensible, constituée par des coli immobiles, ne se développant pas dans le milieu acide, et deux autres races résistantes poussant dans un milieu acide et mobiles, dont l'une donne des colonies épaisses, muqueuses, et l'autre des colonies non mucoïdes sur gélose. Par conséquent, dans la souche utilisée par Bordet et Ciuca, deux variétés au moins préexistent dans la culture : l'une sensible, l'autre résistante au bactériophage.

Gratia conclut que la race résistante n'existe que par sélection naturelle, car les caractères particuliers qu'elle présente préexistent à l'action du bactériophage. A noter, que l'acidité du milieu constitue un facteur de sélection naturelle, car la race sensible ne se développe pas dans ces conditions.

Eliava et Pozerwsky admettent l'hypothèse de la production des races résistantes par un phénomène d'adaptation. En fait, le type résistant isolé, dont nous avons indiqué le caractère ci-dessus, par repiquage, successif sur gélose, perd peu à peu tout aspect anormal, tendant à devenir en même temps progressivement sensible au bactériophage. Donc il semble bien s'agir, d'un phénomène d'adaptation (Philibert).

Le bactériophage est-il capable de conférer l'immunité ?

Nous allons voir qu'on peut en effet développer l'immunité sur un organisme par inoculation unique ou répétée d'un lysat de culture.

1. Par une inoculation unique.

Voici comment on opère. On isole d'abord le principe bactériophage par filtration sur bougie et chauffage à 56° (selle et pus) et l'on prépare un lysat au dépens d'une culture du microbe choisi. En inoculant en une seule fois par la voie buccale, sous-cutanée ou intra-veineuse, ce lysat à un animal, on provoque chez celui-ci, d'abord une immunité immédiate contre une inoculation d'une dose plusieurs fois mortelle de la maladie. On provoque également dans le sérum de cet animal l'apparition du pouvoir lytique sept heures après inoculation. Ce fait a été observé d'abord par d'Hérelle avec un lysat de *B sanguinarum*, avec un lysat dysentérique par (Kabeschima) et plus tard avec un lysat de bacilles de barbone (d'Hérelle et Louet).

Mais en outre, indépendamment de cette immunité active, on peut également produire une *immunité passive*.

D'Hérelle, en effet, a réussi à immuniser un taurillon neuf par injection de 500 cc. de sang d'un taurillon immunisé activement. En plus, on a pu trouver dans le sang d'une poule infectée par le bacille *sanguinarum* (typhose aviaire) des propriétés lytiques (d'Hérelle). Ce fait devenait compréhensible, puisque en inoculant une fois un lysat filtré de coli-bacilles (par conséquent ne contenant pas des bacilles résistants) sous la peau d'un cobaye ou la veine d'un lapin (Bordet et Ciuca) et après avoir saigné l'animal sept heures après, on a obtenu un sérum, qui chauffé, possédait le pouvoir lytique. On ne peut expliquer ce phénomène de bactériolyse que par un principe nouveau et au surplus indépendant des alexines et anticorps, puisque d'une part on a détruit le complément par le chauffage du sérum et que d'autre part on a éliminé les bacilles résistants lysogènes par la filtration.

2. *Par inoculation répétée.*

Un lysat inoculé successivement provoque une sensibilisation vis-à-vis du microbe employé et il confère au sérum des propriétés anti-lytiques.

D'Hérelle et Eliava, Bordet et Ciuca ont déterminé la mort d'une souris avec une dose de $1/10^6$ de la dose mortelle pour les souris témoins en leur inoculant un sérum anti-lytique actif de lapin obtenu par l'inoculation répétée d'un lysat de bacilles dysentériques.

De plus, Bordet et Ciuca ont pu obtenir un sérum anti-lytique par inoculation répétée au cobaye ou au lapin

d'un lysat de colli-bacilles. D'autre part les races des coli-bacilles résistants, mis en présence de ce sérum anti-lytique, ont perdu leur propriété lysogène et retrouvé la sensibilité vis-à-vis du bactériophage.

Essais d'application thérapeutique

Puisqu'il est possible de cultiver *in vitro* « le bactériophage actif contre une bactérie » donnée en quantité aussi considérable qu'on désire, d'Hérelle a pensé qu'il était possible de rendre réfractaire les individus sensibles, en d'autres termes de les vacciner contre une maladie donnée. Ces essais ont été faits chez l'animal et les résultats pratiques obtenus ont été en concordance avec les faits théoriques. Les expériences ont été pratiquées surtout avec la typhose aviaire et barbone du buffle. Dans le cas typhose aviaire, les vaccinations ont été effectuées par l'ingestion d'un cc³ de bactériophage actif contre *B. gallinarum* sur 600 animaux et par inoculation sous-cutanée de la même culture sur 1.500 animaux. Résultats : la mortalité des poules a cessé brusquement et définitivement à partir de la vaccination. Dans le barbone des buffles, les expériences d'immunisation ont été des plus concluantes : l'injection d'un quart de cc³ a conféré une immunité telle que les animaux ont pu résister ensuite à une inoculation d'épreuve représentant mille doses mortelles de culture de bactéries pathogènes. Chez l'homme, d'Hérelle a essayé le traitement par l'ingestion de 1 cc³ de culture bactério-

phage dans 7 cas de dysenterie grave. Dans ces sept cas, 36 heures après l'ingestion, le sang et les bacilles ont disparu des selles et le malade entra en convalescence et cela sans aucune autre médication. D'Hérelle souhaite qu'une méthode générale de vaccinothérapie, basée sur la théorie du bactériophage, soit étendue à un grand nombre d'infections diverses.

Conclusions

L'existence d'un principe nouveau que d'Hérelle a dénommé bactériophage et démontré par cet auteur a été extrait des selles des dysentériques convalescents ou des sujets normaux.

Ce principe nouveau a la propriété de déterminer la lyse d'une culture des bacilles dysentériques. D'autres auteurs ont également montré qu'il existait aussi un bactériophage vis-à-vis d'autres races microbiennes, appartenant en particulier au groupe de salmonelloses et transmissible par cultures successives. C'est probablement un virus filtrant animé. Il traverse les filtres (Chamb. et Berkfeld), résiste au chauffage à 75° et divers corps chimiques (comme chloroforme, acétone, etc.), mais est détruit par les sels de quinine (chlorhyd. et bi-chlorhyd.). Il n'est pas rigoureusement spécifique vis-à-vis de l'espèce microbienne chez laquelle il a déterminé une lyse complète. Il est adaptable à d'autres races microbiennes. Notion à retenir : il existe des races résistantes à ce principe, races qui peuvent transmettre leur caractère modifié à leurs descendants.

Expérimentalement, on peut conférer l'immunité à l'animal soit par injection unique (immunité active),

soit par inoculation répétée (immunité passive). On produit aussi par une inoculation répétée un sérum antilytique, capable de rendre sensibles les races microbiennes résistantes. Ces phénomènes d'immunité sont indépendantes des anti-corps et des alexines. Leur destruction par les sels de quinine doit empêcher d'employer ce médicament au cours des maladies microbiennes aiguës, intestinales surtout.

Les essais thérapeutiques, institués par d'Hérelle semblent avoir donné des résultats satisfaisants dans le cas de typhose aviaire, dysenterie bacillaire infantile (d'Hérelle) et ces cas ouvrent à la thérapeutique une voie nouvelle à la vaccinothérapie, de même que le phénomène d'Hérelle a ajouté un nouveau chapitre à la Biologie.

Vu le Doyen,

Vu le Président,

ROGER.

BEZANÇON.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

APPELL.

Bibliographie

- F. D'HÉRELLE. — Sur un microbe invisible antagoniste des bacilles dysentériques. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLV, 10 sept. 1917, p. 373.
- Technique de la recherche du microbe filtrant bactériophage. (*Bactério phagum intestinale*). *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXI, 7 déc. 1918, p. 1160.
- Sur le rôle du microbe filtrant bactériophage dans le dysenterie bacillaire. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLVII, 9 déc. 1918, p. 970.
- Du rôle du microbe filtrant bactériophage dans la fièvre typhoïde. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLXVIII, 24 mars 1919, p. 631.
- Sur le microbe bactériophage. *C. R. Soc. Biol.* LXXXII, 29 novembre 1919, p. 1237.
- Sur une épizootie de Typhose aviaire. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLXIX, 3 nov. 1919, p. 817.
- Sur le rôle du microbe bactériophage dans la typhose aviaire. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXIX, 17 nov. 1919, p. 932.
- Le processus de défense contre les bacilles intestinaux et l'étiologie des maladies d'origine intestinale. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXX, 5 janv. 1920, p. 72.
- Sur la culture du microbe bactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 24 janv. 1920, p. 52.

- Sur la résistance des bactéries à l'action du microbe bactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, tome LXXXIII, 31 janv. 1920, p. 917.
- Sur le microbe bactériophage, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 6 mars 1920, p. 247.
- Sur le microbe bactériophage, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 23 oct. 1920, p. 1318.
- Sur la nature du principe bactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 23 oct. 1920, p. 1320.
- Le microbe bactériophage, agent d'immunité dans la peste et le charbon. *C. R. Acad. Sc.*, t. CLXXII, 3 janv. 1921, p. 99.
- Sur la nature du bactériophage (« *Bactériophagum intestinale* » de d'Hérelle, 1918). *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 19 février 1921, p. 339.
- Phénomènes coïncidant avec l'acquisition de la résistance des Bactéries à l'action du bactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 24 février 1921, p. 384.
- F. D'HÉRELLE et G. ELIAVA. — Sur le sérum antibactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 23 avril 1921, p. 719.
- F. D'HÉRELLE. — Sur l'historique du bactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 14 mai 1921, p. 863.
- Sur la nature du bactériophage. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 21 mai 1921, p. 908.
- Le bactériophage : son rôle dans l'immunité. *Presse Médicale*, 11 juin 1921, n^o 47, p. 463.
- J. BABLET. — Sur le principe bactériophage de d'Hérelle. *C. R. Soc. Biol.*, 23 oct. 1920, p. 1322.
- J. BORDET et M. CIUCA. — Exsudats leucocytaires et autolyse microbienne transmissible. *Réunion Soc. belge de Biol.*, 9 oct. 1920. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 1923.

- Le bactériophage de d'Hérelle, sa production et son interprétation. *Réunion Soc. belge de Biol., in C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, p. 1296.
- Déterminisme de l'autolyse microbienne transmissible.
- Spécificité de l'autolyse microbienne transmissible.
- Autolyse microbienne et sérum antilytique. *Réunion Soc. belge de Biol.*, 29 janv. 1921, *in C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 276, 278 et 280.
- Remarques sur l'histoire des recherches concernant la lyse microbienne transmissible. *Réunion Soc. belge Biol.*, 26 mars 1921, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 745.
- Evolution des cultures de coli-lysogène ; guérison et retour à l'état primitif, par le sérum antilytique des coli-lysogènes. *Réunion Soc. belge Biol.*, 26 mars 1921, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 747 et 748.
- R. BRUYNOGHE et J. MAISIN. — Au sujet des microbes devenus résistants au principe bactériophage. *Réunion Soc. belge Biol.*, 30 avril 1921, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 847.
- R. BRUYNOGHE. — Au sujet de la guérison des germes devenus résistants au principe bactériophage. *Réunion Soc. belge Biol.*, 28 mai. *C. R. Biol.*, t. LXXXV, p. 20.
- Au sujet de la nature du principe bactériophage. *Réunion Soc. belge Biol.*, 25 juin 1921, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 258.
- J. DUMAS. — Sur la présence du Bactériophage dans l'intestin sain, dans la terre et dans l'eau. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIII, 23 oct. 1920, p. 1314.
- J. DEBRÉ et J. HAGUENEAU. — Quelques particularités du « phénomène » de d'Hérelle ; *C. R. Soc. Biol.*,

- t. LXXXIII, 30 oct. et 6 nov. 1920, p. 1348 et 1368.
- G. ELIAVA et POZERSKI. — Sur les caractères nouveaux présentés par le bacille de Shiga, ayant résisté à l'action du bactériophage de d'Hérelle. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, 23 avril 1921, p. 708.
- De l'action destructive des sels de quinine, sur le bactériophage de d'Hérelle. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, 25 juin 1921, p. 139.
- ANDRÉ GRATIA. — Influence de la réaction du milieu sur l'autolyse microbienne transmissible. *Réunion Soc. belge Biol.*, 20 janvier 1921, in *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, p. 275.
- Studies on the lytic agent of Bordet and Ciuca. *Proceed Soc. f. exper. Biol. a méd.*, t. XVIII, mars 1921, p. 192.
- De l'adaptation héréditaire du coli-bacille à l'autolyse microbienne transmissible. — Dissociation d'une souche de coli-bacille en deux types d'individus de propriétés et de virulence différentes. — De la signification des « colonies de Bactériophage de d'Hérelle ». — Sur la spécificité du principe lytique. — Autolyse transmissible et variations microbiennes. *Réunion Soc. belge Biol.*, 26 mars et 25 juin 1921, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXIV, pages 750 à 755 et t. LXXXV, p. 251.
- L'autolyse transmissible du staphylocoque et l'action coagulante des cultures lysées. *Réunion Soc. belge Biol.*, 28 mai 1921. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 25.
- TANUZO KABESHIMA. — Recherches expérimentales sur la vaccination préventive contre le bacille dysentérique de Shiga. *C. R. Acad. Sciences*, tome CLXIX, 1^{er} déc. 1919, p. 1061.

- Thérapie expérimentale des porteurs de germes.
C. R. Acad. Sc., t. CLXX, 5 janv. 1920, p. 71.
- Sur un ferment d'immunité bactériolysant; du
mécanisme d'immunité infectieuse intestinale;
de la nature dudit « microbe filtrant bactériophag »
de d'Hérelle. C. R. Soc. Biol., tome LXXXIII, 28 février 1920, p. 219.
- Sur le ferment d'immunité bactériolysant. C. R.
Soc. Biol., t. LXXXIII, 17 avril 1920, p. 471.
- AMV. KUTTNER. — Preliminary Report on a typhoid bac-
tériophage. *Proceed. Soc. f. exper. Biol. a med.*,
t. XVIII, 16 février 1921, p. 158.
- J. MAISIN. — Au sujet de la nature du principe bactériophag.
Adaptation du bactériophage, *Réunion Soc. belge Biol.*, 26 février 1921, in C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV, p. 467-468.
- Au sujet du principe bactériophage et des anti-
corps. *Réunion Soc. belge Biol.*, 26 mars 1921.
C. R. Soc. Biol., t. LXXXIV, p. 755.
- SALIMBENI. — Sur le bactériophage de d'Hérelle. C. R.
Soc. Biol., t. LXXXIII, 11 déc. 1920, p. 1545.
- Sur la nature du bactériophage de d'Hérelle. C.
R. Acad. Sc., t. CLXXI, 13 déc. 1920, p. 1241.
- E. WOLLMANN. — A propos de la note de MM. Bordet et
Ciuca. (Phénomène de d'Hérelle, autolyse mi-
crobienne transmissible de J. Bordet et M.
Ciuca, et hypothèse de la pangénèse de Darwin).
C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, 27 nov. 1920, p.
1478.
- Sur le phénomène de d'Hérelle. C. R. Soc. Biol.,
t. LXXXIV, 8 janv. 1921, p. 7.
- ANDRÉ PHILIBERT. — Le principe bactériophage. Société
de Pathologie. Confér. Séance, 11 oct. 1921.
- OSCAR BAIL. — Das bacteriophage virus non d'Hérelle.
Bactériophage Wirkurgen gegen Flexner und

- koli-bacteries. Wien. Klin. Woch., t. XXXIV,
19 mai et 15 sept. 1921, p. 237-238 et 417-419.
- GILDEMEISTER. — Ueber deus das d'Herello phanomer.
Berlinstr Klinische Wochenschr, t. LVIII, 14
nov. 1921.
- APPELWAN. — Le bactériophage dans l'organisme. *Réu-
nion Soc. belge de Biol.*, 18 oct. 1921, in *C. R.
Soc. Biol.*, t. LXXXV, p. 722.
- F. D'HÉRELLE. — Le bactériophage. Son rôle dans l'im-
munité. Paris, Masson, 1921.
-

— —
Limoges, Imprimerie Commerciale Perrette
—

